

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen - Nürnberg

Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Untersuchungen zur Ausscheidung von
Benzoessäure und Hippursäure im mensch-
lichen Urin nach Einnahme von
Dimethylamino-phenyldimethyl-pyrazolonum

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von

Max Scharrer
aus Gunzenhausen

1973 № 220

Aus dem Institut für Pharmazie
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Widmer

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen - Nürnberg

Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Untersuchungen zur Ausscheidung von
Benzoessäure und Hippursäure im mensch-
lichen Urin nach Einnahme von
Dimethylamino-phenyldimethyl-pyrazolonum

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von

Max Scharrer

aus Gunzenhausen

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der

Universität Erlangen - Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. Dr. H. Pauly
Referent: Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher-v.Mallinckrodt
Coreferent: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 22. 5. 1973

Verzeichnis

Seite

1.	Einleitung	1
2.	Verzeichnis der Verzeichnisse	2
3.	Verzeichnis der Verzeichnisse	3
4.	Verzeichnis der Verzeichnisse	4
5.	Verzeichnis der Verzeichnisse	5
6.	Verzeichnis der Verzeichnisse	6
7.	Verzeichnis der Verzeichnisse	7
8.	Verzeichnis der Verzeichnisse	8
9.	Verzeichnis der Verzeichnisse	9
10.	Verzeichnis der Verzeichnisse	10
11.	Verzeichnis der Verzeichnisse	11
12.	Verzeichnis der Verzeichnisse	12
13.	Verzeichnis der Verzeichnisse	13
14.	Verzeichnis der Verzeichnisse	14
15.	Verzeichnis der Verzeichnisse	15
16.	Verzeichnis der Verzeichnisse	16
17.	Verzeichnis der Verzeichnisse	17
18.	Verzeichnis der Verzeichnisse	18
19.	Verzeichnis der Verzeichnisse	19
20.	Verzeichnis der Verzeichnisse	20
21.	Verzeichnis der Verzeichnisse	21
22.	Verzeichnis der Verzeichnisse	22
23.	Verzeichnis der Verzeichnisse	23
24.	Verzeichnis der Verzeichnisse	24
25.	Verzeichnis der Verzeichnisse	25
26.	Verzeichnis der Verzeichnisse	26
27.	Verzeichnis der Verzeichnisse	27
28.	Verzeichnis der Verzeichnisse	28
29.	Verzeichnis der Verzeichnisse	29
30.	Verzeichnis der Verzeichnisse	30
31.	Verzeichnis der Verzeichnisse	31
32.	Verzeichnis der Verzeichnisse	32
33.	Verzeichnis der Verzeichnisse	33
34.	Verzeichnis der Verzeichnisse	34
35.	Verzeichnis der Verzeichnisse	35
36.	Verzeichnis der Verzeichnisse	36
37.	Verzeichnis der Verzeichnisse	37
38.	Verzeichnis der Verzeichnisse	38
39.	Verzeichnis der Verzeichnisse	39
40.	Verzeichnis der Verzeichnisse	40
41.	Verzeichnis der Verzeichnisse	41
42.	Verzeichnis der Verzeichnisse	42
43.	Verzeichnis der Verzeichnisse	43
44.	Verzeichnis der Verzeichnisse	44
45.	Verzeichnis der Verzeichnisse	45
46.	Verzeichnis der Verzeichnisse	46
47.	Verzeichnis der Verzeichnisse	47
48.	Verzeichnis der Verzeichnisse	48
49.	Verzeichnis der Verzeichnisse	49
50.	Verzeichnis der Verzeichnisse	50
51.	Verzeichnis der Verzeichnisse	51
52.	Verzeichnis der Verzeichnisse	52
53.	Verzeichnis der Verzeichnisse	53
54.	Verzeichnis der Verzeichnisse	54
55.	Verzeichnis der Verzeichnisse	55
56.	Verzeichnis der Verzeichnisse	56
57.	Verzeichnis der Verzeichnisse	57
58.	Verzeichnis der Verzeichnisse	58
59.	Verzeichnis der Verzeichnisse	59
60.	Verzeichnis der Verzeichnisse	60
61.	Verzeichnis der Verzeichnisse	61
62.	Verzeichnis der Verzeichnisse	62
63.	Verzeichnis der Verzeichnisse	63
64.	Verzeichnis der Verzeichnisse	64
65.	Verzeichnis der Verzeichnisse	65
66.	Verzeichnis der Verzeichnisse	66
67.	Verzeichnis der Verzeichnisse	67
68.	Verzeichnis der Verzeichnisse	68
69.	Verzeichnis der Verzeichnisse	69
70.	Verzeichnis der Verzeichnisse	70
71.	Verzeichnis der Verzeichnisse	71
72.	Verzeichnis der Verzeichnisse	72
73.	Verzeichnis der Verzeichnisse	73
74.	Verzeichnis der Verzeichnisse	74
75.	Verzeichnis der Verzeichnisse	75
76.	Verzeichnis der Verzeichnisse	76
77.	Verzeichnis der Verzeichnisse	77
78.	Verzeichnis der Verzeichnisse	78
79.	Verzeichnis der Verzeichnisse	79
80.	Verzeichnis der Verzeichnisse	80
81.	Verzeichnis der Verzeichnisse	81
82.	Verzeichnis der Verzeichnisse	82
83.	Verzeichnis der Verzeichnisse	83
84.	Verzeichnis der Verzeichnisse	84
85.	Verzeichnis der Verzeichnisse	85
86.	Verzeichnis der Verzeichnisse	86
87.	Verzeichnis der Verzeichnisse	87
88.	Verzeichnis der Verzeichnisse	88
89.	Verzeichnis der Verzeichnisse	89
90.	Verzeichnis der Verzeichnisse	90
91.	Verzeichnis der Verzeichnisse	91
92.	Verzeichnis der Verzeichnisse	92
93.	Verzeichnis der Verzeichnisse	93
94.	Verzeichnis der Verzeichnisse	94
95.	Verzeichnis der Verzeichnisse	95
96.	Verzeichnis der Verzeichnisse	96
97.	Verzeichnis der Verzeichnisse	97
98.	Verzeichnis der Verzeichnisse	98
99.	Verzeichnis der Verzeichnisse	99
100.	Verzeichnis der Verzeichnisse	100

Meinen Eltern gewidmet

<u>Disposition</u>		Seite
1.	Einleitung	5
2.	Problemstellung	6
3.	Hauptteil	7
3.1	Erster Teil	7
3.1.1	Komponenten	7
3.1.2	Synthese und Syntheseort der Hippursäure	9
3.1.3	Chemische und physikalische Eigenschaften der Hippursäure	11
3.1.4	Hippursäure und Benzoylglucuronid	13
3.1.5	Quantitative Hippursäureausscheidung beim Menschen	15
3.1.6	Tag- und Nachtrhythmus	16
3.1.7	Exogene und endogene Stimulation der Hippursäureausscheidung	17
3.2	Zweiter Teil	20
3.2.1	Vorbereitende Ausführungen zu den Versuchen	20
3.2.1.1	Versuchstechnik	20
3.2.1.2	Wiederfindungsversuche mit Benzoesäure und Hippursäure	22
3.2.1.3	Wahl des Pharmakon	26
3.2.2	Durchführung der Eigenversuche	28
3.2.2.1	Leerversuch	28
3.2.2.2	Diät und Versuch mit Pyramidon ^R	29

	Seite
3.3 Dritter Teil	30
Tabellarische und graphische	
Darstellung der Ergebnisse der	
Eigenversuche	
4. Diskussion	56
5. Zusammenfassung	65
Literaturverzeichnis	

1. Einleitung

Vor über 140 Jahren gelang es LIEBIG zum ersten Male, Hippursäure aus Pferdeharn darzustellen.

Bereits 12 Jahre nach ihrer Entdeckung erkannte URE die Bedeutung der Hippursäure für den menschlichen Organismus. Sie ist ein vom Körper synthetisiertes Kopplungsprodukt aus Benzoesäure und Glycin mit Entgiftungsfunktion.

Die Ergebnisse von Tierversuchen und Versuchen am Menschen ließen in der Folgezeit eine komplexe Stellung der Hippursäure im Organismus erkennen. Ort und Vorgang der Synthese, sowie individuelle physiologische Einflußgrößen auf die Ausscheidung werden diskutiert.

In den Vordergrund gerückt sind in letzter Zeit Nachforschungen über die Einflüsse endogener und exogener Faktoren, wie beispielsweise Pharmaka, auf die Hippursäureausscheidung.

Zu diesen aktuellen Fragen liegen - selbst wenn man sich auf Versuche beim Menschen beschränkt - eine Vielzahl teils sich widersprechender Forschungsergebnisse vor.

In ihrer Gesamtheit vermitteln sie von der Hippursäureausscheidung ein noch unvollständiges Bild, das durch weitere Untersuchungen ergänzt werden muß.

2. Problemstellung

Die vorliegende Arbeit hat es sich zur Aufgabe gemacht, zunächst Normalwerte der Hippursäureausscheidung beim Menschen über einen Zeitraum von 19 Tagen zu bestimmen. In einer zweiten Untersuchung, die 15 Tage dauert, soll durch Einhaltung einer bestimmten Diät die Ausscheidung von Hippursäure auf niedrige und möglichst gleichbleibende Werte eingestellt werden. Innerhalb dieser Untersuchung soll dann ermittelt werden, inwieweit ein Pharmakon - in diesem Falle das Antipyreticum und Analgeticum Pyramidon^R - die Ausscheidung der Hippursäure bei der Versuchsperson beeinflusst.

Zusätzlich soll herausgefunden werden, ob ein "Wach-Schlaf-Rhythmus" bzw. ein "Tag-Nacht-Rhythmus" für die ausgeschiedene Hippursäuremenge besteht.

Daneben wurde in allen untersuchten Harnproben auch die Anwesenheit freier Benzoesäure geprüft.

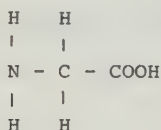
3. Hauptteil

3.1 Erster Teil

Theoretische Vorbemerkungen über die Hippursäure

3.1.1 Komponenten

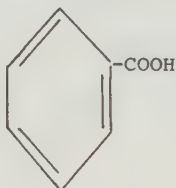
Glykokoll:



Glykokoll, welches die Organe zur Entgiftung von Benzoesäure beanspruchen, ist eine nicht essentielle Aminosäure, die in geringer Konzentration frei im Blut, in Geweben und Organen vorkommt. Sie kann vom Organismus aus Zwischenprodukten des Kohlenhydratstoffwechsels und des Eiweißstoffwechsels synthetisiert oder durch hydrolytische Freisetzung aus gespeicherten Proteinen gewonnen werden. (STRUWE 1953, LOWE und WILLIAMS 1965, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1967, GARFINKEL und LAJTHA 1963). Als Hauptbildungsweg wird die Umwandlung verwandter Aminosäuren wie Serin und Threonin angenommen. (WEBB und Mitarbeiter 1966, STROHMEYER und KLINGMÜLLER 1964).

Da die Leber in einer bestimmten Zeiteinheit nur begrenzte Mengen an Glykokoll bereitstellen kann, im Mittel 2 m^{M} pro Stunde und 100 g Körpergewicht, ist der Glykokollvorrat beschränkt (ALMQUIST 1953, STRUWE 1953, LANG 1960). Die Glykokoll-Konzentration in der Leber ist abhängig von ihrem Funktions- und Ernährungszustand.

Benzoessäure:



Durch vegetabilische Bestandteile der Nahrung gelangt Benzoessäure wahrscheinlich über eine nicht aromatische Vorstufe, die Chinasäure, in den Organismus. Außerdem wird sie durch Speisen, die mit Benzoessäure oder Parahydroxybenzoessäure konserviert sind, aufgenommen (DERACHE und GOURDON 1963, VAN SUMERE 1969, MÖLLER 1961).

Fäulnisvorgänge im Darm (STRUWE 1953), fermentative Prozesse (VOLLGRAFF 1967) und der Eiweiß-Stoffwechsel liefern kleinere Mengen Benzoessäure (VOLLGRAFF 1967, LANG 1960, BERNHARD und Mitarbeiter 1955). In höheren Dosen ist Benzoessäure toxisch, sie wird nicht gespeichert (LANG 1960),

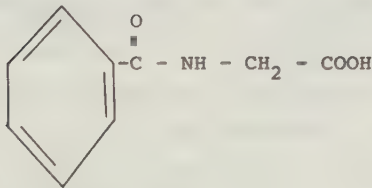
normalerweise rasch resorbiert (VOGEL und Mitarbeiter 1966, SCHANKER und Mitarbeiter 1958), eliminiert durch Konjugation mit Glykokoll und so entgiftet als Hippursäure ausgeschieden.

Über die toxische Dosis beim Menschen werden unterschiedliche Angaben gemacht. Sie liegen im Bereich von 5,7 g bis 33 g Benzoesäure.

3.1.2 Synthese und Syntheseort der Hippursäure

Die Hippursäure ist das Ergebnis der Kopplung von Glykokoll und Benzoesäure in einer säureamidartigen Bindung.

Hippursäure:



Bei der Synthese handelt es sich um einen Sauerstoff verbrauchenden, fermentativen Vorgang, der endotherm abläuft (STRUWE 1953, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1954). Die dafür benötigte Energie wird aus dem oxydativen Abbau der Brenztraubensäure gewonnen, in Form von ATP wieder freigesetzt und kann so auf das System, welches die Kopplung vollzieht, übertragen werden (STRUWE 1953, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1956, ANONYMUS 1968).

Es gilt als gesichert, daß Hippursäure beim Menschen in der Niere synthetisiert wird, wahrscheinlich auch in der Leber (STRUWE 1953, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1966, DESPOPULUS 1966). Wie COHEN und MC GILVERY 1946 an Rattenversuchen zeigten, wird ausschließlich in diesen beiden Organen Glykokoll und para-Aminobenzoesäure in para-Aminohippursäure verwandelt, wobei die Niere eine 2,5 - 3 mal größere Aktivität als die Leber aufwies. Die Beteiligung der Leber am Synthesevorgang ist ziemlich sicher - Mitochondrien werden als verantwortliche Zellstruktur angenommen (STRUWE 1953, VOLLGRAFF 1967, JOHANNSEN und Mitarbeiter 1962, LA DOU und Mitarbeiter 1962, LANG 1960). Für diesen Syntheseort spricht, daß hier auch der biologische Prozess der Atmungskette abläuft. Er gilt als Energiespender für die Kopplung von Glykokoll und Benzoesäure.

Löslichkeit:

leichtlöslich: in heißem Wasser
löslich: in heißem Alkohol
wenig löslich: in kaltem Wasser und
kaltem Alkohol
unlöslich: in Benzol, Petrol-
äther, Schwefel-
kohlenstoff

In 100 ml Chloroform lösen sich 0,11 g Hippursäure
In 100 ml Äther lösen sich 0,25 g Hippursäure
In 100 ml Wasser lösen sich 0,35 g Hippursäure
(Wassertemperatur 20° C)

Salze: Ag-, Cu-, Pb-Salze
in H₂O schwer löslich
Fe (III)-Salz unlös-
lich

(RÖMPP 1966, RAUEN 1956, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ
1966, HALLMANN 1966, TEUCHY und VAN SUMERE 1969, WEISS
1970).

3.1.4 Hippursäure und Benzoylglucuronid

Der Organismus kann bis zu einer gewissen Grenze unphysiologisch hohe Benzoessäuremengen entgiften (STRUWE 1953).

Verschiedene Autoren berichten von 90% bis 95% durch Hippursäure entgiftete Benzoessäure (FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1957, LA DOU und Mitarbeiter 1962). 1970 wiesen BRIDGES und Mitarbeiter durch Tracing mit C¹⁴ markierter Benzoessäure nach, daß 1 mg/kg Körpergewicht Benzoessäure in 12 Stunden zu 100% in Hippursäure umgewandelt wird. Da diese Versuche aber nur an zwei Personen durchgeführt werden, haben sie keine allgemeingültige Aussagekraft.

Dagegen stellten BRIDGES und Mitarbeiter im Tierversuch fest, daß bei hohen Gaben von Benzoessäure (z. B. 50 mg/kg bei Schwein, Hund u. a.) nach 24 Stunden neben 80% Hippursäure 20% Benzoessäureglucuronid und freie Benzoesäure ausgeschieden wurden.

In Versuchen am Menschen ermittelte SCHACHTER 1957 nach Natriumbenzoatgaben von 1 g - 10 g per os, daß die Benzoessäure-Glucuronsäure-Verbindung bei der Gesamtausscheidung einen prozentualen Anstieg von 0,4% auf 3% zu verzeichnen hatte.

G. SCHMIDT hat 1956 unter Mitwirkung von WALZ, DEISEL und BURGDORF nach therapeutischer Adalinaufnahme Harnuntersuchungen durchgeführt.

Sie kamen zu dem Ergebnis, daß nach Adalinverabreichung immer vermehrt Benzoesäure im Urin zu finden ist. Ihren Angaben zufolge kommt freie Benzoesäure im Harn in stark wechselnden Mengen vor.

Im Widerspruch dazu stehen die Untersuchungen von H. ZIENER (1971), der in frischen Harnproben keine Benzoesäure nachweisen konnte.

Folgende Verfahren wurden von ihm dabei angewandt:

Dünnschichtchromatographie

UV - Spektroskopie

IR - Spektroskopie

Die Chromatographie wurde durchgeführt mit Woelm-F-Platten in einem speziell entwickelten Laufmittel bestehend aus:

80 ml Chloroform

20 ml Cyclohexan

10 ml Eisessig

(H. ZIENER 1971)

Mit dieser Methode ist es möglich, im Gegensatz zur Papierchromatographie, Hippursäure und Benzoesäure deutlich voneinander zu trennen. (Stark unterschiedliche RF-Werte; RF-Wert Benzoesäure etwa 0,79, RF-Wert Hippursäure etwa 0,22).

Lediglich in altem, nicht sogleich angesäuertem Harn konnte ZIENER Benzoesäure nachweisen.

Ziemlich einheitlich hingegen sind die Angaben über die Maximalausscheidung unter normalen physiologischen Verhältnissen:

Maximalausscheidung (physiolog.): 1 g / die

Als maximal mögliche Hippursäureausscheidung unter unphysiologischen Bedingungen wird der Wert von einem Gramm je Stunde angegeben (SCHACHTER 1957).

3.1.6 "Tag- und Nacht-Rhythmus"

Es gibt nur wenige Angaben über ein alternierendes Detoxikationsvermögen von Leber und Niere im Sinne eines "Tag-Nacht-Rhythmus", was sich in unterschiedlichen Hippursäuremengen widerspiegeln könnte.

1950 beschrieb GEORGI einen 24-stündigen Rhythmus der Entgiftungsfähigkeit, wobei zwischen 23 Uhr und 3 Uhr die Hippursäureausscheidung erniedrigt war. Er stellte bei klinisch gesunden Menschen signifikante Unterschiede zwischen Tages- und Nachtwerten fest. Ein "Funktionsrhythmus des Entgiftungsvermögens", dessen Auftreten bis heute noch nicht erklärt werden kann.

3.1.7 Exogene und endogene Faktoren, welche die Hippursäureausscheidung beeinflussen

Bei den exogenen Faktoren, die die Quantität der Hippursäureausscheidung beeinflussen können, nehmen Nahrungsmittel die entscheidende Stellung ein. Man unterscheidet hier danach, ob bei ihnen die für die Bildung von Hippursäure verantwortliche Substanz bekannt oder unbekannt ist.

Jede dieser beiden Gruppen läßt sich wieder danach unterteilen, ob sie beim Abbau im Stoffwechsel Benzoesäure oder Glykokoll liefert.

Als Hauptursache für eine erhöhte Hippursäureausscheidung wird die Chinasäure angesehen, die Bestandteil vieler pflanzlicher Nahrungsmittel ist. Es handelt sich um eine nicht aromatische Carbonsäure. Der systematische Name ist 1,3,4,5-Tetrahydroxy-cyclo-hexan-carbonsäure.

Ihren Namen hat sie von der Chinarinde, an deren Bestandteilen sie mit etwa 5 - 8% beteiligt ist.

Durch Aromatisierung und Dehydrierung wird sie in Benzoesäure umgewandelt. Diese wiederum wird nach erfolgter Kopplung mit Glykokoll als Hippursäure ausgeschieden (BERNHARD 1955).

1960 wiesen COTRAN und Mitarbeiter nach, daß Darmbakterien am Umwandlungsprozess der Chinasäure beteiligt sind. Durch Neomycingaben, die eine Vermehrung der Darm-

bakterien bei der Versuchsperson unmöglich machten, fiel der durch Chinasäuregaben zuvor erzielte Hippursäurespiegel rapide auf das Niveau des Kontrollwertes (Leerversuch ohne Chinasäure) oder noch tiefer ab, obwohl weiter Chinasäure eingenommen wurde.

Andere exogene Benzoessäurelieferanten sind aromatische Bestandteile aus Gemüse.

Die Aufnahme von glykokollreichen Proteinen, Elastin und Gelatine forciert ebenfalls die Hippursäuresynthese.

Pharmaka können organische Stoffwechselvorgänge beeinflussen - ob, und in welchem Ausmaß sie Einfluß auf die Hippursäuresynthese bzw. Ausscheidung haben, ist noch nicht vollständig geklärt.

Zu den endogenen Faktoren gehören beispielsweise Stoffwechselerkrankungen, Resorptionsstörungen, Parenchymschäden, aber auch andere Allgemeinerkrankungen, die Funktionsveränderungen oder Funktionsstörungen im menschlichen Organismus, insbesondere an Leber und Niere, hervorrufen.

So müssen insbesondere bei den experimentellen Eigenuntersuchungen bei dem Probanden diese Faktoren ausgeschaltet sein, da sonst eine Bestimmung "normaler" Hippursäurewerte nicht möglich ist und es somit zur Verfälschung der Ergebnisse kommen würde.

Der Proband muß deshalb klinisch gesund sein, und er

darf nicht an folgenden Krankheiten leiden: Leber- und Nierenschäden.

Sie beeinträchtigen die Glykokollmobilisation, die Paarung von Benzoesäure und Glykokoll, somit die Synthese der Hippursäure.

Hyperthyreoidismus

Encephalomyelitis

Schizophrenie

Anämie (speziell - perniziöse Anämie)

Die Versuchsperson darf weiterhin nicht leicht erregbar sein. Starke psychische Erregung stimuliert die Hippursäureproduktion so, daß die Hippursäuremenge im Urin bei "furchtsamen" Personen grundsätzlich höher ist, als bei weniger ängstlichen (LA DOU und Mitarbeiter 1962, GEORGI 1950). Der Autor dieser Arbeit erfüllte alle der oben genannten Bedingungen (Alter: 24 Jahre, Größe: 182 cm, Körpergewicht: 75 kg).

3.2 Zweiter Teil

Eigene Untersuchungen

3.2.1 Vorbereitende Ausführungen zu den Versuchen

3.2.1.1 Versuchstechnik

Die Versuchstechnik gliedert sich in folgende Arbeitsgänge:

Frischer Urin wird *s o f o r t* mit 20%iger Weinsäure auf pH 2-3 angesäuert und gekühlt. (Ausschaltung der Hippuricase - s. 3.1.4 S. 13 -) nach ZIENER (1971). 25 ml jeder so präparierten Harnportion werden dreimal mit je 50 ml Äther ausgeschüttelt. Dieser Ätherextrakt wird mit 2-3 Teelöffel Natriumsulfat entwässert, filtriert und anschließend im Wasserbad vorsichtig abgedampft.

Übrig bleibt ein rötlich-brauner Extrakt am Boden des zum Verdampfen verwendeten Gefäßes.

Der Niederschlag am Boden des Gefäßes wird in 1 ml Alkohol gelöst und von dieser Lösung 0,04 ml auf eine Kieselgel-Platte aufgetragen.

Die Platte wird in ein Laufmittelgemisch gestellt (80 ml Chloroform, 20 ml Cyclohexan, 10 ml Eisessig nach ZIENER).

Nach ca. 1 1/2 Stunden (Laufstrecke etwa 18 cm) wird sie herausgenommen und getrocknet.

Unter einer UV-Lampe erkennt man nach der Entwicklung auf der Woelm-F-Platte Absorptionen, die von der in einem bestimmten Abstand vom Start gelegenen Hippursäure hervorgerufen werden. Zum Vergleich läßt man auf jeder Platte eine alkoholische Lösung reiner Hippursäure mitlaufen. (Siehe Abb.)

Als nächstes werden die Absorptionen unter der UV-Lampe markiert, vorsichtig von der Platte abgeschabt und mit 5 ml Boratpuffer (pH9) versetzt. Nach einer Wartezeit von ca. 15 Minuten - die Hippursäure muß sich erst im Boratpuffer lösen - wird 5 Minuten lang zentrifugiert.

1. Messung

Von der klaren, überstehenden Flüssigkeit wird 1 ml vorsichtig entnommen und in einem Reagenzglas weiter verdünnt, in eine Quarz-Küvette gegeben und im Wellenbereich von 360-210 nm die Extinktion gemessen. Ergibt sich ein zu großer Ausschlag, so wird entsprechend weiter mit Boratpuffer verdünnt, bis sich eine deutliche Kurve abzeichnet (max. 223 nm). Als Vergleichslösung wird Boratpuffer verwendet.

2. Messung

Die in der Küvette enthaltene Lösung wird mit zwei kleinen Tropfen frischer, konzentrierter NaOH auf etwa pH 14 gebracht, gut durchgeschüttelt und gemessen, wenn die leichte Trübung, die dabei vorübergehend auftritt, verschwunden ist.

3. Messung

Zur dritten Messung wird noch einmal 1 ml von der restlichen, sich noch im Reagenzglas befindlichen, endgültigen Verdünnung mit 5-6 Tropfen frischer, konzentrierter H_2SO_4 versetzt (etwa pH 1-2), in die Küvette gegeben und die Extinktion im Bereich von 360-210 nm gemessen.

3.2.1.2 Wiederfindungsversuche mit Benzoessäure und Hippursäure

Um die Brauchbarkeit des beschriebenen Verfahrens zu testen, wurden sogenannte Wiederfindungsversuche mit Benzoessäure und Hippursäure durchgeführt.

Wiederfindungsversuch mit Benzoesäure

Vorgang:

Zu 25 ml einer frischen Urinprobe, deren Gehalt an Hippursäure bereits bekannt war, wurden festgesetzte Mengen von Benzoesäure gegeben. (2500-, 2000-, 1500-, 1000-, und 500 Gamma Benzoesäure). Die folgenden Arbeitsgänge richteten sich genau nach der auf Seite 20 beschriebenen Versuchstechnik. Der einzige Unterschied dazu bestand darin, daß die Laufzeit in dem beschriebenen Seite 20) Laufmittelgemisch nur ca. 45 Minuten betrug.

Weitere Versuchsreihen mit Benzoesäure am UV-Spektrographen ergaben, daß die Nachweisgrenze von Benzoesäure bei dem Gerät bei einem Grenzwert von 6,5 Gamma/ml liegt. Niedrigere Werte ließen keinen charakteristischen Kurvenverlauf mehr erkennen, konnten jedoch noch auf der Dünnschichtplatte im UV-Licht bis 1 µg/Fleck erkannt werden.

In der folgenden Tabelle 1 sind die Werte aufgeführt, die sich bei dem beschriebenen Wiederfindungsversuch mit Benzoesäure ergaben.

Tabelle 1 Wiederfindungsversuch mit Benzoesäure

Zugegebene Ben- zoessäuremenge pro 25 ml Urin (μ g)	Benzoesäure im Fleck der Platte Soll (μ g)	Benzoesäure im Fleck der Platte Ist (μ g)	Prozentsatz der wieder- gefundenen Benzoesäure
2500	100	97,6	97,6 %
2500	100	98	98 %
2000	80	45	56,3 %
2000	80	76	95 %
1500	60	52,4	87 %
1500	60	45,4	75,6 %
1500	60	48,8	81,3 %
1000	40	21,6	54 %
1000	40	30	75 %
1000	40	25,9	64,9 %
500	20	12,5	62,5 %
500	20	13,5	67,5 %

Ergebnis:

Im Mittel wurden 76,2% der künstlich zugefügten Menge an Benzoesäure wiedergefunden. Der Prozentsatz der wiedergefundenen Benzoesäure war bei höherer Benzoesäurekonzentration größer, als bei niedriger.

Tabelle 2 Wiederfindungsversuch mit Hippursäure

Zugegebene Hip- pursäuremenge pro 25 ml Urin (μ g)	Hippursäure im Fleck der Platte Soll (μ g)	Hippursäure im Fleck der Platte Ist (μ g)	Prozentsatz der wieder- gefundenen Hippursäure
13625	545	520	95,5 %
6775	271	204	75,3 %
5250	210	155	74 %
4700	188	117	62,2 %
4675	187	158	84,5 %
4600	184	134	73 %
3550	142	112	78,9 %
2362	94	65	68,8 %

Ergebnis:

Bei Anwendung der auf Seite 20 beschriebenen Versuchstechnik, wurden im Mittel 76,5% der zusätzlich hinzugefügten Menge an Hippursäure wiedergefunden.

Wiederfindungsversuch mit Hippursäure

Vorgang:

Zu einer frischen Urinprobe (25 ml), deren Gehalt an Hippursäure gerade zuvor bestimmt worden war, wurde genau die Hälfte der gemessenen Hippursäuremenge zusätzlich dazugegeben.

Anschließend wurde genau nach der auf Seite 20 beschriebenen Versuchstechnik gearbeitet.

Von den neuen gefundenen Werten wurden die vorher gemessenen Werte (ohne zusätzlicher Hippursäure) abgezogen, und der daraus resultierende Differenzbetrag mit dem der zusätzlich hinzugefügten Hippursäuremenge verglichen.

Die in der auf Seite 25 stehenden Tabelle 2 aufgeführten Werte geben die in 1 ml Urin enthaltene Hippursäure wieder.

3.2.1.3 Wahl des Pharmakon

Als Medikament wurde Pyramidon^R gewählt, das nach SCHMIDT (1956) die Ausscheidung von Hippursäure beeinflusst.

In den Handel kam das 4-N-Dimethylaminoantipyrin bereits 1897.

Es wurde von dem, zu dieser Zeit in den Höchster Farbwerten tätigen Chemiker Friedrich Stolz erstmals hergestellt.

Pyramidon^R ist ein Antipyreticum und Analgeticum, es wirkt auf die bei Fieber übermäßig erregten wärmeregulierenden Zentren im Hirn wie auf die Schmerzempfindung vermittelnden Zentren der Großhirnrinde schwach narkotisch und somit gleichzeitig fieberherabsetzend und schmerzlindernd. Weiterhin wirkt es krampflösend bei Kontraktionszuständen der glatten Muskulatur. Seiner mehrfachen Wirkungen wegen ist es mit verschiedenen anderen Pharmaka kombiniert, wobei vielfach nicht eine einfache Addition der Wirkungen, sondern infolge gegenseitiger Beeinflussung auch eine Modifizierung der Wirkungen erfolgt.

Systematischer Name: Dimethylamino-phenyldimethylpyrazolonum

Summenformel: $C_{13} H_{17} N_3 O$

Strukturformel:

$$\begin{array}{c} H_3C - C = C - N(CH_3)_2 \\ | \quad | \\ H_3C - N \quad CO \\ \quad \backslash \quad / \\ \quad \quad N - C_6H_5 \end{array}$$

Hersteller: Farbwerke Hoechst AG Frankfurt/Main

3.2.2 Durchführung der Eigenversuche

3.2.2.1 Leerversuch

Der Leerversuch wurde durchgeführt, um die individuellen Normalwerte der Hippursäureausscheidung bei der Versuchsperson festzustellen.

Er erstreckte sich über einen Zeitraum von 18 Tagen, wobei folgende Bedingungen auferlegt wurden:

Ein mehrtägiges medikamentenfreies Intervall vor Versuchsbeginn.

Ernährung durch - für die Versuchsperson - Normalkost. In einem Speiseplan wurden Datum, Uhrzeit, Menge und Art der Speisen und Getränke festgehalten.

Jede einzelne Urinportion wurde mit Angabe über Menge, Datum und Uhrzeit gesammelt. Dabei wurde wegen Arbeitserleichterung versucht, die Ausscheidung der Urinportionen auf täglich zwei zu reduzieren, nämlich je eine morgens nach dem Aufstehen und eine kurz vor dem Schlafengehen.

Die genommenen Urinportionen wurden sofort angesäuert und aufgearbeitet.

Nur in Ausnahmefällen erfolgte Kühlung bis zur Untersuchung.

Während der Dauer des Versuchs wurden keine Medika-

mente eingenommen.

Die gefundenen Werte sind in folgenden Mengenangaben tabellarisch zusammengefaßt:

Hippursäuremenge mg je Portion Urin

Hippursäuremenge mg% je Portion Urin

Hippursäuremenge mg je Tag

3.2.2.2 Diät und Versuch mit Pyramidon^R

Der Versuch erstreckte sich über einen Zeitraum von 16 Tagen. Innerhalb dieses Zeitraums mußte eine Diät eingehalten werden, wobei der Genuß folgender Nahrungsmittel und Getränke nicht erlaubt war:

Obst

Gemüse und Salate

mit Konservierungsstoffen haltbar gemachte

Nahrungsmittel

Fruchtsäfte und Fruchtsaftgetränke

Bohnenkaffee

Tee

Alkohol

Durch diese Diät sollte die Hippursäureausscheidung bei der Versuchsperson auf ein niedriges und möglichst

gleichbleibendes Niveau gebracht werden. Im Übrigen herrschten die gleichen Versuchsbedingungen wie beim Leerversuch.

Nach gelungener Erfüllung obiger Forderungen, erfolgte die Einnahme des Medikaments, in diesem Fall am 10. Tag des Diätversuchs.

Datum der Medikamenteneinnahme: 23. 9. 1971

Uhrzeit der Medikamenteneinnahme: 9 ⁰⁰ Uhr

Dosis: 2 Tabletten Pyramidon^R zu 0,3 g = 0,6 g

Anschließend sollte ermittelt werden, ob und in welchem Ausmaß die Hippursäureausscheidung bei der Versuchsperson durch die Einnahme von Pyramidon^R beeinflusst wird. Außerdem wurde auf die Anwesenheit freier Benzoessäure geprüft.

3.3 Dritter Teil

Tabellarische und graphische Darstellung der Ergebnisse

In den folgenden Tabellen und graphischen Darstellungen sind alle beim Leerversuch, bei Diät und beim Versuch mit Pyramidon^R gewonnenen Werte dar- und zusammengestellt.

Tabelle 3 Ergebnisse des Leerversuches

Datum und Nummer der Urinprobe	Extinktion der Borat- pufferkurve	Verdünnungs- faktor	Hippursäure ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Urinmenge (ml)	Hippursäure der Urin- probe (mg%)	gesamt (mg)	Tagesmenge Hippursäure (mg)
26 I	86,5	10	17,8	250	17,8	44,5	
26 II	82	22,5	16,9	220	38	83,5	315
26 III	84,5	32,5	17,4	330	56,6	187	
27 I	80,5	17,5	16,5	550	28,8	158,5	
27 II	77	35	15,7	880	55	484	642,5
28 I	81	30	16,7	230	50,1	115	
28 II	81	30	16,7	570	50,1	286	401
29 I	88	77,5	18,8	580	140	813	
29 II	86,5	35	17,8	485	62,4	302	1115

Datum und Extinktion	Verdünnungs-	Hippursäure	Urinmenge	Hippursäure der Urin-Tagesmenge	
Nummer der der Borat-	faktor	($\mu\text{g/ml}$)	(ml)	probe	Hippursäure
Urinprobe	pufferkurve			(mg%)	gesamt (mg)
30 I	87	17,9	430	161	693
30 II	90	18,5	460	37	170
31 I	76	15,5	510	31	158
31 II	86	17,7	450	39,8	179
31 III	74	15	310	30	93
1 I	78,5	16	475	20	95
1 II	74,5	15,1	450	18,9	85
1 III	69	14	340	21	71,5
2 I	88,5	18,2	280	109	305
2 II	78,5	16	390	28	109
2 III	91,5	18,7	210	37,4	78,5

Datum und Nummer der Urinprobe	Extinktion der Borat- pufferkurve	Verdünnungs- faktor	Hippursäure ($\mu\text{g/ml}$)	Urinmenge (ml)	Hippursäure der Urin- probe (mg%)	gesamt (mg)	Tagesmenge Hippursäure (mg)
3 I	81,5	25	16,8	310	42	130	
3 II	83	12,5	17,1	290	21,4	62	345
3 III	88,5	30	18,2	280	54,5	153	
4 I	88	30	18,1	210	54,2	114	1
4 II	81	22,5	16,7	265	37,6	99,5	3
4 III	64	15	13	490	19,5	96	3
5 I	70	20	14,2	280	28,4	79,5	1
5 II	63	15	12,8	435	19,2	83,5	309
5 III	70	12,5	14,2	485	17,75	86	
6 I	91	22,5	18,7	520	42	218	499
6 II	89	30	18,3	510	55	281	

Datum und Nummer der Urinprobe	Extinktion der Borat- pufferkurve	Verdünnungs- faktor	Hippursäure ($\mu\text{g/ml}$)	Urinmenge (ml)	Hippursäure der Urin- probe (mg%)	Tagesmenge Hippursäure (mg)
7 I	85	21	17,5	550	36,8	135,5
7 II	88,5	75	18,2	520	136,5	845,5
8 I	89,5	45	18,4	390	83	324
8 II	88	17,5	18,1	635	31,7	202
9 I	82,5	22,5	17	440	38,2	168
9 II	81	10	16,7	900	16,7	150,5
10 I	77	12,5	15,7	530	19,6	104
10 II	75	21	15,2	560	31,9	179
11 I	82	19,5	16,9	410	33	135
11 II	83,5	22,5	17,2	550	38,8	214
						349
						526
						318,5
						283
						349

1
34
1

Datum und Nummer der Urinprobe	Extinktion der Borat- pufferkurve	Verdünnungs- faktor	Hippursäure ($\mu\text{g/ml}$)	Urinmenge (ml)	Hippursäure der Urin- probe (mg%)	Hippursäure gesamt-(mg)	Tagesmenge Hippursäure (mg)
12 I	90	69	18,5	275	127	350	1550
12 II	82	95	16,9	750	160,5	1200	
13 I	84	85	17,3	460	147	675	
13 II	83,5	60	17,2	285	103	294	969

1
35
1

Tabelle 4 Ergebnisse des Diätversuches

14 I	77	24	15,7	550	37,7	207	
14 II	83,5	21	17,2	340	36,1	123	330
15 I	81,5	13,5	16,8	485	22,6	110	
15 II	90,5	6	18,6	340	11,15	38	216
15 III	80	12	16,3	350	19,5	68,5	

Datum und Nummer der Urinprobe	Extinktion der Borat- pufferkurve	Verdünnungs- faktor	Hippursäure ($\mu\text{g/ml}$)	Urinmenge (ml)	Hippursäure der Urin- probe (mg%)	Tagesmenge Hippursäure (mg)
16 I	86	21	17,7	315	37,2	117
16 II	94	15	19,1	425	28,6	121,5
17 I	81	15	16,7	515	25	129
17 II	76	12	15,5	200	18,6	37,2
18 I	87	12	17,9	400	21,5	84
18 II	87,5	15	18	415	27	112
19 I	78,5	9	16	470	14,4	67,5
19 II	76	15	15,5	330	23,2	76,5
20 I	85,5	21	17,6	175	37	66,5
20 II	78	18	15,9	340	28,6	97

1
3
6
1

196

166,2

144

163,5

Datum und Nummer der Urinprobe	Extinktion der Borat- pufferkurve	Verdünnungs- faktor	Hippursäure ($\mu\text{g/ml}$)	Urinmenge (ml)	Hippursäure der Urin- probe (mg%)	gesamt- (mg)	Tagesmenge Hippursäure (mg)
21 I	72	12	14,6	360	17,5	45,5	123
21 II	79	15	16,1	320	24,2	77,5	
22 I	89	15	18,3	330	27,5	90,7	
22 II	60,5	12	12,3	455	14,3	65	155,7

- 37 -

Tabelle 5 Ergebnisse des Versuches mit Pyramidon^R

23 I	85	7,5	17,5	750	13,2	98,5	172,5
23 II	76	10,5	15,5	455	16,3	74	
24 I	76,5	9	15,6	570	14,05	80	172
24 II	88	15	18,1	320	28,8	92	

Datum und Nummer der Urinprobe	Extinktion der Borat- pufferkurve	Verdünnungs- faktor	Hippursäure ($\mu\text{g/ml}$)	Urinmenge (ml)	Hippursäure der Urin- probe (mg%)	gesamt-(mg)	Tagesmenge Hippursäure (mg)
25 I	85	16,5	17,5	350	27,2	95	176,5
25 II	74,5	9	15,1	600	13,6	81,5	
26 I	73	12	14,8	415	17,8	74	
26 II	84	12	17,3	470	20,8	97,5	171,5
27 I	82	12	16,9	300	20,3	61	
27 II	83	12	17,1	430	20,5	88	159
28 I	84	14,5	17,3	450	25	112	
28 II	95	8	18,5	490	14,8	72,5	184,5
29 I	81	21	16,7	515	25	129	
29 II	60,5	12	12,3	455	14,3	65	194

1
38
1

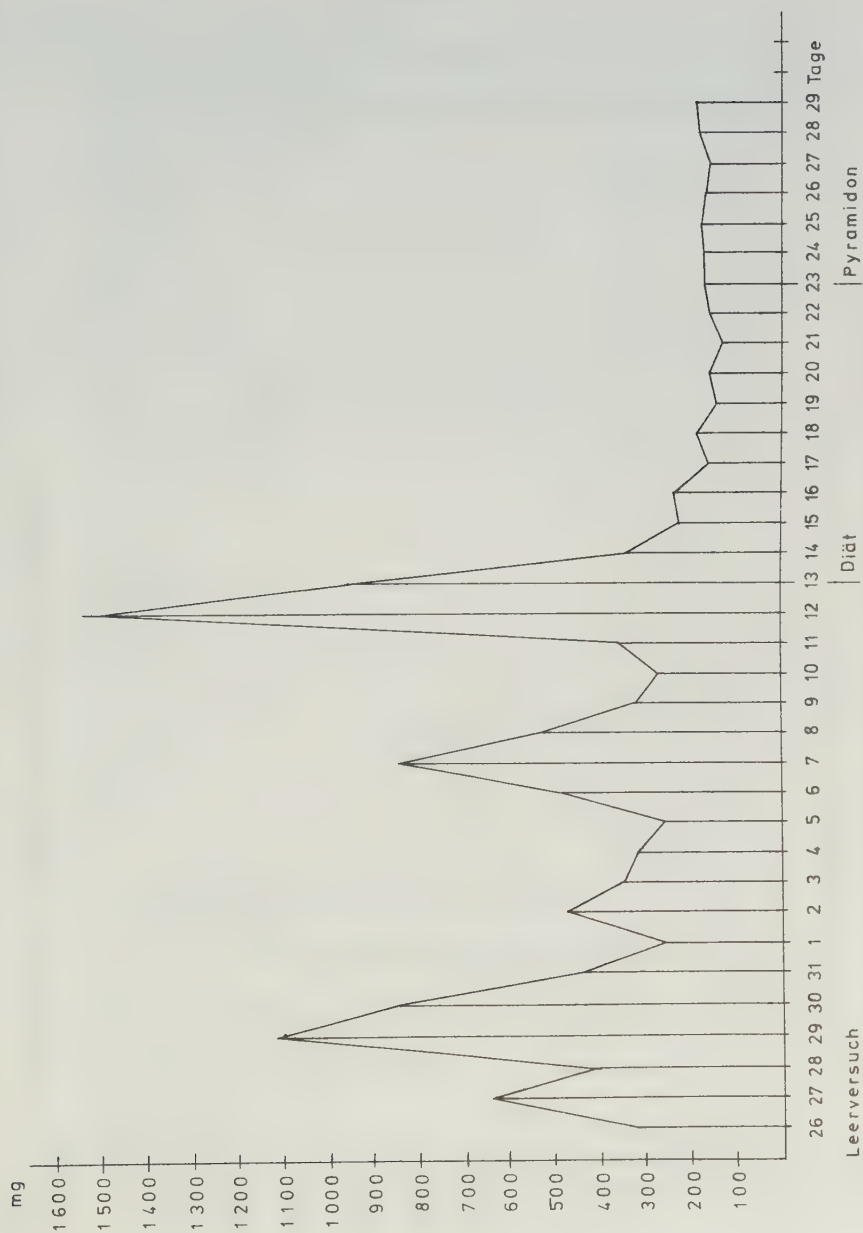


Abb. 1 Übersicht über den Gesamtversuch: Hippursäuremenge (mg) am Tag

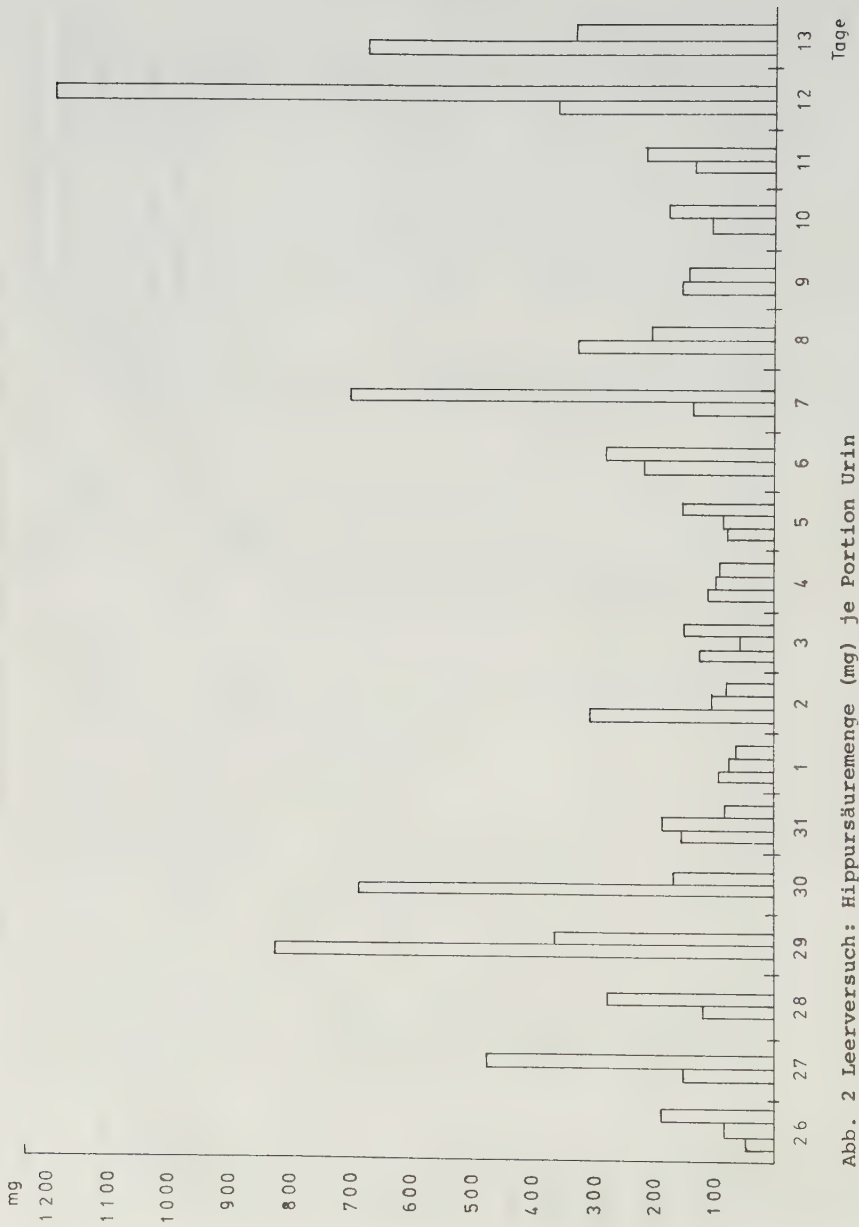


Abb. 2 Leerversuch: Hippursäuremenge (mg) je Portion Urin

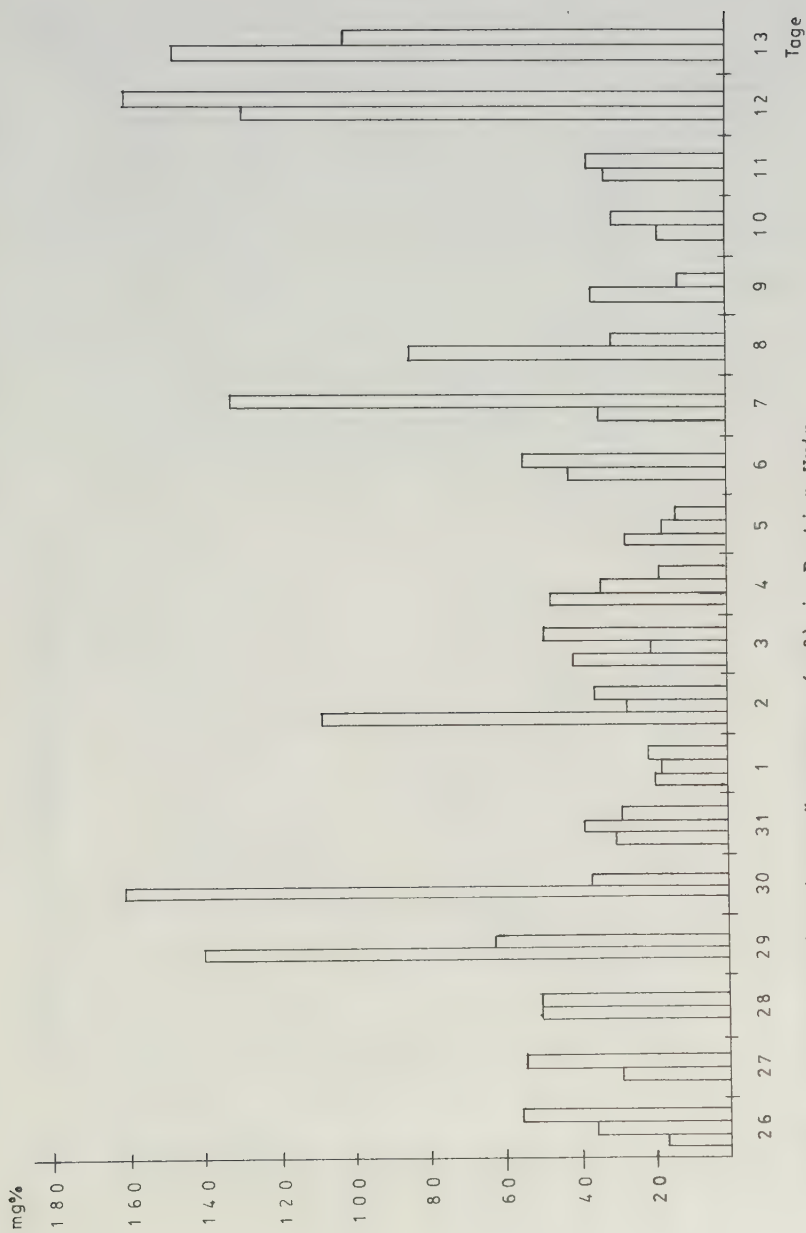


Abb. 3 Leerversuch: Hippursäuremenge (mg%) je Portion Urin

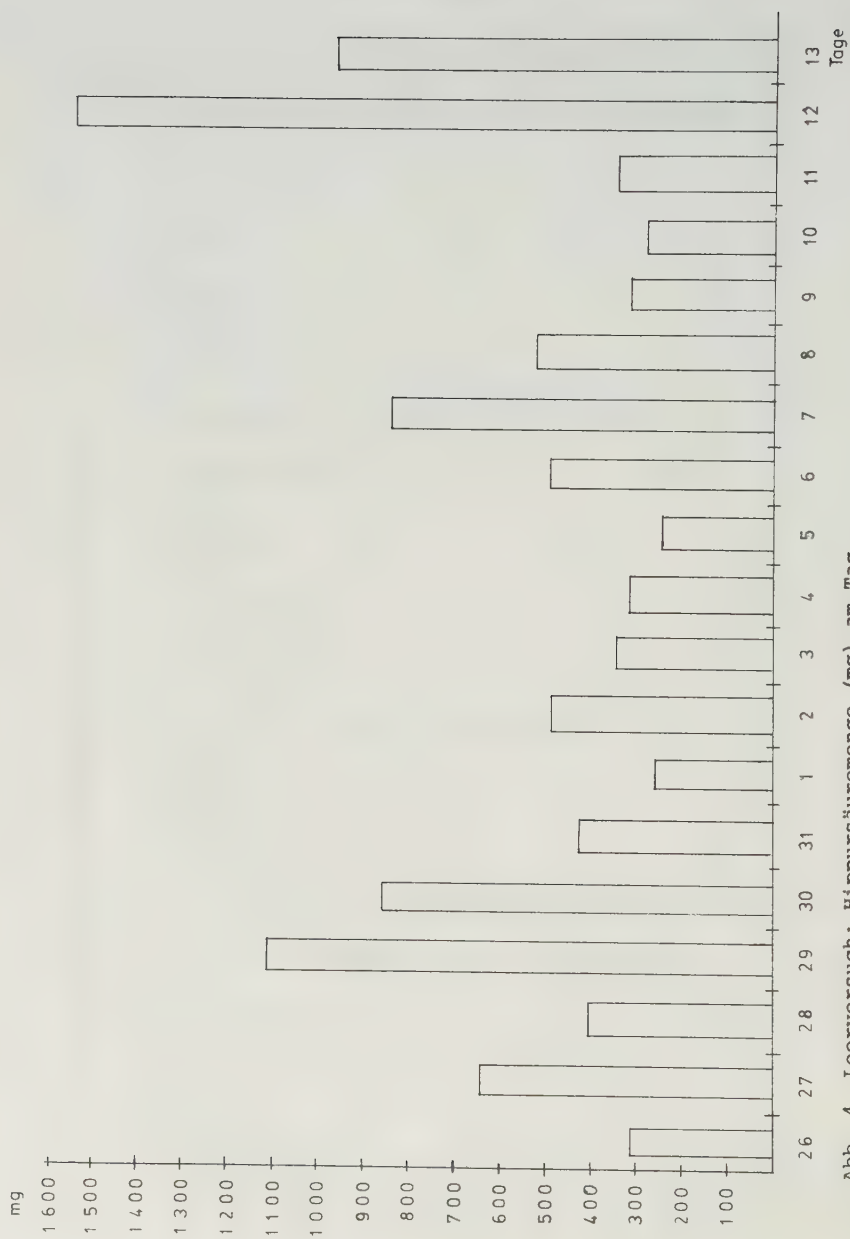


Abb. 4 Leerversuch: Hippursäuremenge (mg) am Tag



Abb. 5 Diätversuch: Hippursäuremenge (mg) je Portion Urin

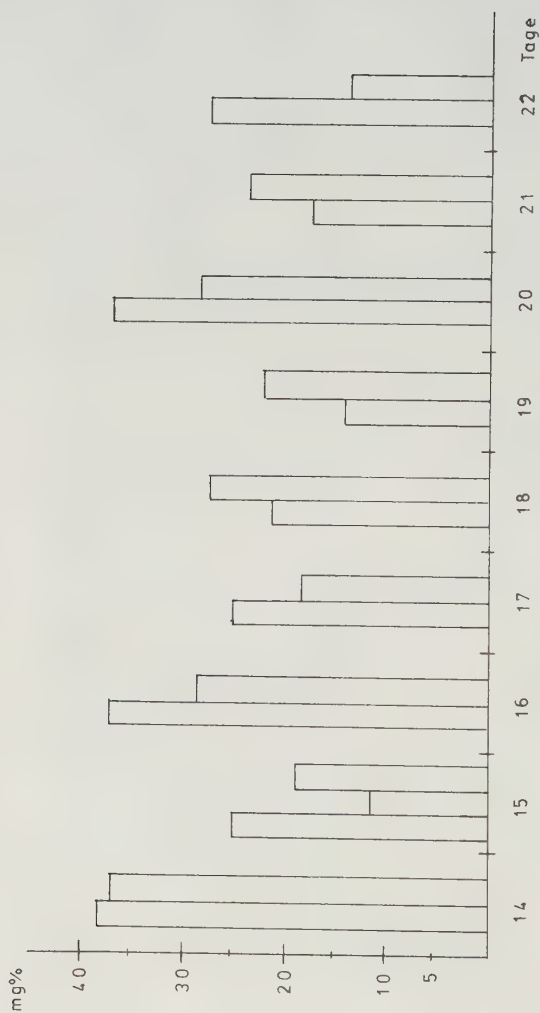


Abb. 6 Diätversuch: Hippursäuremenge (mg%) je Portion Urin

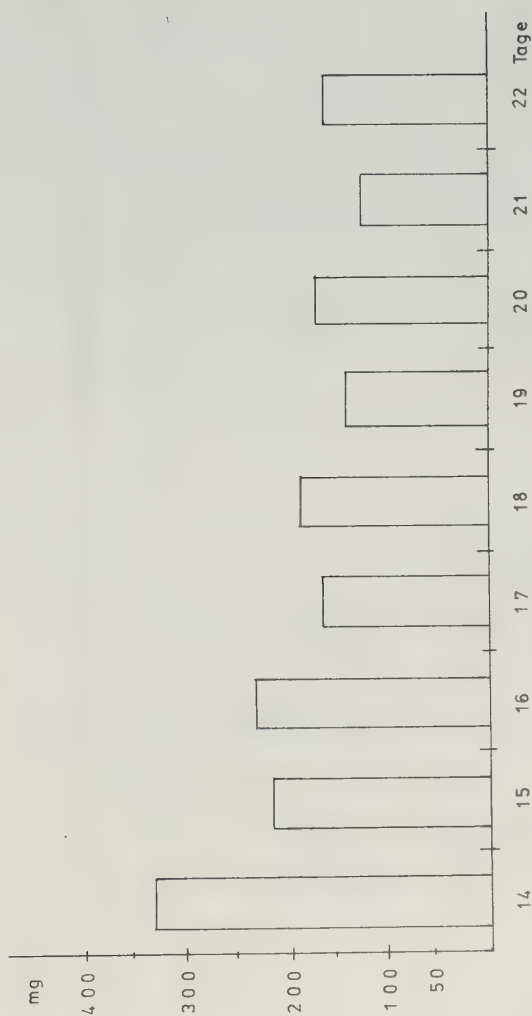


Abb. 7 Diätversuch: Hippursäuremenge (mg) am Tag



Abb. 8 Versuch mit Pyramidon^R: Hippursäuremenge (mg) je Portion Urin

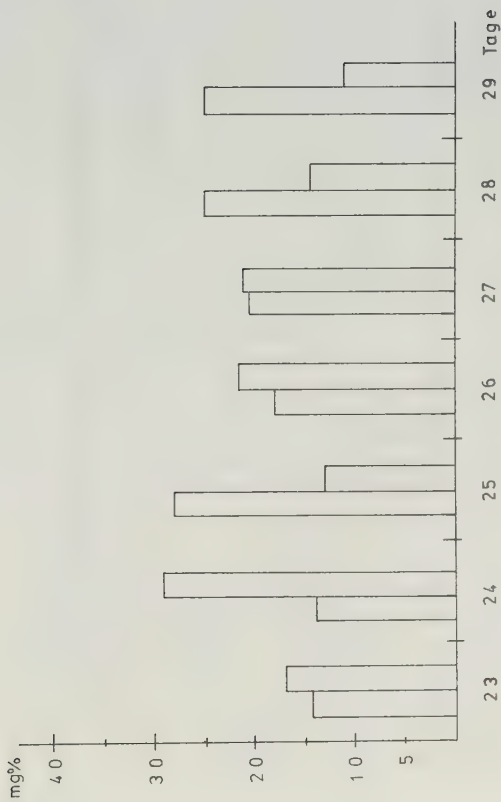


Abb. 9 Versuch mit Pyramidon^R: Hippursäuremenge (mg%) je Portion Urin

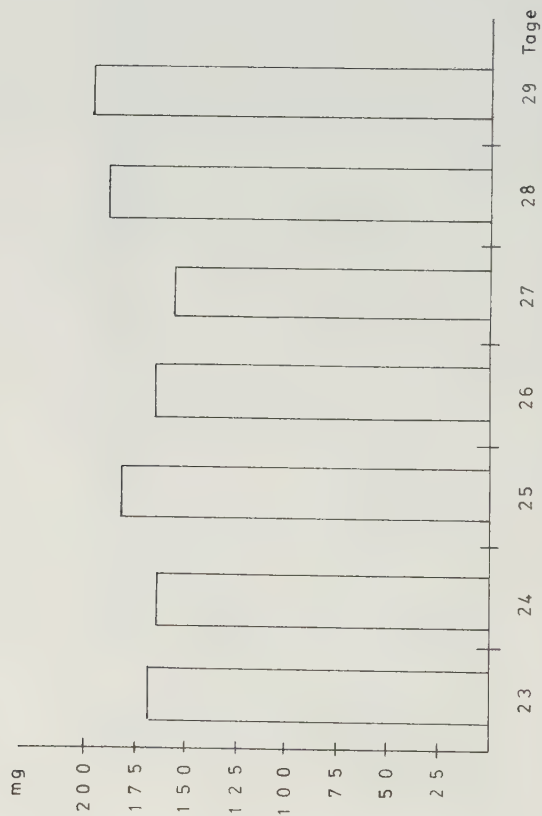


Abb. 10 Versuch mit Pyramidon^R: Hippursäuremenge (mg) am Tag

Speiseplan vom 26.8. - 12.9.1971

In dieser Zeitspanne enthält der Speiseplan Normalkost, d.h. Speisen und Getränke, die wie gewohnt verabreicht wurden.

Datum	Morgens	Mittags		Abends
		und	Nachmittags	
26.8.	Milch, Kakao, Haferflocken, 1 Orange	Fleisch, Kartoffel, Salat, 1/2 l Bier, 2 Bananen		Wurst, Käse, Senf,
27.8.	1/4 l Kakao, Brot Butter, Honig	Fisch, Kartoffel, Salat, 1 l Bier		Kartoffel, Zwiebel, Tomaten, Limonade
28.8.	Milch, Haferflocken, 2 Orangen	Fleisch, Kartoffel, Gemüse, 3 Tassen Kaffee, Zwetschkuchen, 1/2 Pfd. Trauben		Brot, Käse, Tomaten, Gurke, schwarzer Tee

Datum	Morgens	Mittags und Nachmittags	Abends
29.8.	Kaffee, Kuchen	Gemüseintopf, Milch	Wurst, Brot, Rettich, 1/2 l Bier
30.8.	Milch, Haferflocken	Fleisch, Kartoffel, Salat	Käse, Brot, 1/2 l Milch, Schokolade
31.8.	Kakao, Brot, Erd- beermarmelade	Fisch, Kartoffel, Li- monade, 1/2 l Bier	Wurst, Brot, 1/4 l Bier
1.9.	Tee, Brot, Honig	Fleisch, Rotkraut, Kartoffel, 1/2 l Bier	Wurst, Spargel, 1/4 l Milch
2.9.	Milch, Haferflocken, 1 Apfel	Milchreis, eingemach- te Pfirsiche, Limo- nade	Bratwürste mit Kraut, Brot, 1/4 l Bier

Datum	Morgens	Mittags und Nachmittags	Abends
3.9.	Kakao, Haferflocken	Fleisch, Klöße, Salat, Mineralwasser	Pudding, 1/2 l Milch
4.9.	Kakao, Ei, Brot, Honig	Reisgericht, Salat, 1/4 l Milch	geröstete Kartoffel, Wurst, 1/4 l Bier
5.9.	Kaffee, Kuchen	Eier, Kartoffel, Salat, 1/4 l Bier	Wurst, Brot, Rettich Gurkensalat, 1/2 l Bier
6.9.	Kaffee, Brot, Ei, 1 Apfel	Fisch, Kartoffel, Sala- te, 1/4 l Bier, 2 Tas- sen Kaffee	Leber, Tomatensalat, Brot, Himbeerkompott
7.9.	2 Tassen Kaffee, Brot, Ei, Kuchen	Fleisch, Gemüse, Brat- kartoffel, Salate, 1/2 l Bier	Eier, Brot, Tomaten

Datum	Morgens	Mittags und Nachmittags	Abends
8.9.	Kakao, Haferflocken	Kartoffelsuppe, Wurst, 1/4 l Milch	Kartoffelsuppe, 1/2 l Bier, 1 Schoppen Wein
9.9.	Kakao, Haferflocken, 1 Orange	Reisfleisch, Limonade	Wurst, Brot, 1 l Bier
10.9.	Kakao, Brot, Honig	Pfannkuchen, Apfel- brei, 1/4 l Milch	Eier, Brot, Tomaten, 1/2 l Bier
11.9.	Kaffee, Kuchen	Fleisch, Klöße, Salat, Kaffee, Kuchen	Zwetschgenkuchen, Tee
12.9.	3 Tassen Kaffee, Brot, Ei, Käse	Hasenbraten, Klöße, Sa- late, Preiselbeerkompott, 1/2 Pfd. Zwetschgen, 1 Pfd. Weintrauben, 3 Tassen Kaffee	Pilze, Brot, Weintrauben, 1/2 l Bier, 1 Tasse Kaffee

Speiseplan vom 13.9. - 29.9.1971

In dieser Zeitspanne wurde die auf Seite 29 beschriebene Diätkost eingehalten.

Datum	Morgens	Mittags		Abends
		und	Nachmittags	
13.9.	Kakao, Haferflocken	Milchreis, 1/4 l Milch		Wurst, Brot, Mineral- wasser
14.9.	Milch, Haferflocken	Fleisch, Kartoffel, Mineralwasser, Kuchen		Pudding, Milch
15.9.	Milch, Haferflocken	Fleisch, Brot, Milch,		Ei, Käse, Brot, Mineral- wasser
16.9.	Kakao, Kornflakes	Fisch, Kartoffel, Mineralwasser		Griessbrei mit Ei, Milch
17.9.	Milch, Brot, Honig, Ei	Quarkauflauf, Mineral- wasser		Wurst, Brot, Milch

Datum	Morgens	Mittags und Nachmittags	Abends
18.9.	Milch, Haferflocken	Kartoffelsuppe mit Wurst, Mineralwasser	Kuchen, Milch, Schokolade
19.9.	Milch, Brot, Honig	Fleisch, Reis, Milch	Brot, Käse, Mineralwasser
20.9.	Milch, Brot, Käse	Fleisch, Reis, Mineralwasser, Kuchen	Brot, Wurst, Käse, Milch
21.9.	Milch, Haferflocken	Schinkennudeln, Mineralwasser	Kartoffel, Quark, Käse, Milch
22.9.	Milch, Kuchen	Fleisch, Klöße, Mineralwasser	Pudding, Mineralwasser
23.9.	Milch, Haferflocken 0,6 g Pyramidon ^R	Fisch, Kartoffel, Mineralwasser	Griessbrei, Ei, Milch

Datum	Morgens	Mittags und Nachmittags	Abends
24.9.	Milch, Haferflocken	Dampfnudeln, Vanillien- soße, Mineralwasser	Brot, Wurst, Käse, Milch
25.9.	Milch, Brot, Ei	Fleisch, Reis, Mineral- wasser, Kuchen	Kartoffel, Quark, Käse, Milch
26.9.	Milch, Haferflocken	Fleisch, Nudeln, Milch	Kartoffel, Milch
27.9.	Milch, Haferflocken	Eier, Weißbrot, Mineral- wasser, Kuchen	Wurst, Käse, Toast, Mineralwasser
28.9.	Milch, Brot, Honig	Fleisch, Kartoffel, Mineralwasser	Bratwurst, Kartoffel- salat, Mineralwasser
29.9.	Milch, Brot, Honig	Schinkennudeln, Milch	Käse, Brot, Joghurt, Mineralwasser

4. Diskussion

Leerversuch: Hippursäure (mg) je Portion Urin (S.40)

Die niedrigste Hippursäuremenge, die während des Leerversuches mit einer Portion Urin ausgeschieden wurde, beträgt 44 mg.

Die maximale Hippursäuremenge in einer Portion Urin beträgt während des Leerversuches 1200 mg. Dieser Wert ist zugleich der höchste je Portion im gesamten Versuchsaufbau. Der Minimalwert steht zum Maximalwert in einem Verhältnis von 1 : 27. Durchschnittlich wurden 286,25 mg Hippursäure je Urinportion ausgeschieden.

In Verbindung mit dem genau geführten Speiseplan lassen sich keine Aussagen darüber machen, ob der Genuß eines ganz bestimmten Nahrungsmittels bei einer bestimmten Urinprobe zu einer deutlichen Veränderung der Hippursäureausscheidung geführt hat. Man kann jedoch aufgrund des Speiseplanes feststellen, daß etwa 10 - 20 Stunden vor Auftreten von "Spitzenwerten" (400 - 1200 mg) verhältnismäßig viel Bohnenkaffee und Obst aufgenommen wurde.

Ein eindeutiger "Tag-Nacht- oder "Wach-Schlaf-Rhythmus" ist nicht zu erkennen. In 63 Prozent der Fälle enthält die Urinportion, die kurz vor dem Schlafengehen gelassen wurde, mehr Hippursäure als der darauffolgende "Morgenurin" direkt nach dem Aufstehen. Betrachtet man die

Durchschnittliche Menge an ausgeschiedener Hippursäure je Urinportion, so findet man beim "Morgenurin" 253,4 mg Hippursäure pro Portion, beim "Abendurin" 275,7 mg ausgeschiedene Hippursäure je Portion Urin. Demnach wurden am Abend durchschnittlich um etwa 9% höhere Hippursäuremengen ausgeschieden als am Morgen. Dieses Ergebnis kann eher in Beziehung zu einem gewissen Rhythmus in der Ernährung gebracht werden.

Leerversuch: Hippursäure (mg%) je Portion Urin (S.41)

Die Konzentrationsangaben müssen nicht immer in einer direkten Beziehung zu der ausgeschiedenen Gesamtmenge stehen. Da die Gesamtmenge an ausgeschiedener Hippursäure auch von der Größe der Urinportion abhängt, darf eine hohe Hippursäurekonzentration nicht unbedingt zu dem Schluß führen, daß die ausgeschiedene Gesamtmenge an Hippursäure ebenfalls entsprechend groß ist.

Der niedrigste Wert beträgt 16,7 mg%, der höchste wird mit 161 mg% erreicht. Der Minimalwert steht zum Maximalwert in einem Verhältnis von 1 : 9,6. Die durchschnittliche Konzentration an Hippursäure liegt bei 53,9 mg% je Urinportion.

Die durchschnittliche Konzentration des "Morgenurins" beträgt 63,6 mg%, die des "Abendurins" 53,4 mg%. Die Hippursäurekonzentration war beim "Morgenurin" also durch-

schnittlich um 19% höher als beim "Abendurin".

Im Verhältnis zur ausgeschiedenen Urinmenge finden sich im "Morgenurin" durchschnittlich 626,9 mg Hippursäure - im "Abendurin" 548,4 mg Hippursäure in einem Liter Harn. Ein Tag-Nacht-Rhythmus läßt sich daraus nicht ableiten.

Leerversuch: Hippursäure (mg) pro Tag (S.42)

Der kleinste Wert beträgt 249 mg am Tag, der Maximalwert mit 1550 mg pro Tag übertrifft den niedrigsten um das 6,2-fache.

Die tägliche Hippursäureausscheidung beträgt im Durchschnitt 565,94 mg. Das ergibt einen Gehalt von durchschnittlich 545 mg Hippursäure an einem Liter Harn. Die Werte liegen im Bereich der Norm.

Diät: Hippursäure (mg) je Portion Urin (S.43)

Die ausgeschiedenen Hippursäuremengen liegen bedeutend niedriger als beim Leerversuch. Der Maximalwert, der übrigens ganz am Anfang der Diät auftritt, beträgt 207 mg. Er steht zum Minimalwert, mit 37,2 mg, in einem Verhältnis von 5,5 : 1. Durchschnittlich werden innerhalb der Diät 89 mg Hippursäure in einer Portion Urin ausgeschieden. Alle Werte, ausgenommen die erste Urinportion am Beginn der Diät, bewegen sich in einem Bereich von ± 50 mg um den Mittelwert.

In etwa 42% der Fälle war die Hippursäurequantität in der kurz vor dem Schlafengehen ausgeschiedenen Urinportion größer als im "Morgenurin". Die durchschnittlich in einer Urinportion ausgeschiedene Hippursäuremenge beträgt bei der "Morgenportion" 95,8 mg, bei der "Abendportion" 85,6 mg (im Leerversuch umgekehrt). Ein Tag-Nacht- oder Wach-Schlaf-Rhythmus in der Hippursäureausscheidung kann hieraus nicht abgeleitet werden.

Diät: Hippursäure (mg%) je Portion Urin (S.44)

Innerhalb der Diät wird die niedrigste Konzentration an Hippursäure pro Urinportion mit dem Wert von 11,2 mg% erreicht. Der höchste Wert beträgt 37,7 mg% (am Beginn der Diät). Die durchschnittliche Hippursäurekonzentration beträgt 22,74 mg%.

Der "Morgenurin" weist eine durchschnittliche Konzentration von 23,9 mg% auf, der "Abendurin" hat eine Konzentration von durchschnittlich 22,3 mg%.

Diät: Hippursäure (mg) pro Tag (S.45)

Die Werte liegen im Vergleich zum Leerversuch wesentlich niedriger. Der höchste Wert mit 330 mg liegt wiederum am Anfang der Diät. Der niedrigste ergibt sich am 8. Versuchstag mit einer Hippursäureausscheidung von 123 mg. Abgesehen von der ausgeschiedenen Hippursäuremenge am ersten Tag der

Diät, bewegen sich alle anderen Werte sehr eng um den Durchschnittsbetrag der täglichen ausgeschiedenen Hippursäure, der sich auf 184,6 mg beläuft.

Versuch mit Pyramidon^R: Hippursäure (mg) je Portion Urin
(S.46)

In der ersten Urinportion, etwa 9 Stunden nach Einnahme von 0,6 g Pyramidon^R, werden mit einer normalen Urinmenge (455 ml) 74 mg Hippursäure ausgeschieden. Die nächste Urinportion - 24 Stunden nach Einnahme des Medikamentes - enthält 80 mg Hippursäure. Alle darauffolgenden Werte, einschließlich die eben genannten, bewegen sich innerhalb eines Bereiches von + 13 mg und - 28 mg um den Durchschnittswert von 89 mg. Die Einnahme von Pyramidon^R bewirkte keine signifikante Veränderung der Hippursäureausscheidung in einer Urinportion.

Versuch mit Pyramidon^R: Hippursäure (mg%) je Portion
Urin (S.47)

Anhand der Konzentrationsangaben kann keine exakte Aussage darüber gemacht werden, ob die Einnahme von Pyramidon^R eine Veränderung bei der Ausscheidung von Hippursäure bewirkt. Es ist jedoch festzustellen und hervorzuheben, daß zwischen den Konzentrationen der einzelnen Urinportionen und dem Mittelwert während der Diät kein

signifikanter Unterschied besteht. Die Einnahme von Pyramidon^R hat insofern nichts an der normalen Konzentration einer Urinportion geändert.

Versuch mit Pyramidon^R: Hippursäure (mg) pro Tag (S.48)

24 Stunden vor der Einnahme des Medikamentes werden 155,7 mg Hippursäure ausgeschieden. Für den Tag der Medikamenteneinnahme ergibt sich ein Wert von 172,5 mg, und am darauffolgenden Tag werden 172 mg Hippursäure ausgeschieden. Die folgenden Tagesmengen bis zum Ende der Versuchsreihe liegen ebenfalls dicht in der Nähe dieser Werte.

Die Einnahme von 0,6 g Pyramidon^R hat sich nicht auf die tägliche Hippursäureausscheidung ausgewirkt.

Vergleich der selbst ermittelten Werte mit denen anderer Autoren.

Die im Leerversuch eruierten eigenen, individuellen Normalwerte der Hippursäureausscheidung sind den Angaben aus der Literatur gegenübergestellt.

Hippursäuremenge am Tag: (Mittelwerte)

Eigener Wert:

565,9 mg ——— 700 mg (LANG und LEHNARTZ 1953)
392 mg (VAN SUMERE und Mitarbeiter
1969)
700 mg (FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ
1957)

Hippursäure in 1 Liter Harn: (Mittelwerte)

Eigener Wert:

545 mg ——— 301 mg (SKEDA und
398 mg OHTSUJI 1969)
800 mg (PAGNOTTO und LIEBERMANN
1967)

Werte der Hippursäureausscheidung bei Diätkost und
Leerversuch.

Die Durchschnittswerte des Diätversuches sind denen des
Leerversuches gegenübergestellt, um den Einfluß der Diät-
kost zu verdeutlichen.

Diät:

Leerversuch:

89	mg	/	Urinportion	-----	286,25	mg	/	Urinportion
22,74	mg%	/	Urinportion	-----	53,94	mg%	/	Urinportion
184,6	mg	/	Tag	-----	565,94	mg	/	Tag
217,7	mg	/	Liter Harn	-----	545	mg	/	Liter Harn

Bei dieser Gegenüberstellung kommt deutlich zum Ausdruck, daß die Hippursäureausscheidung nach Einhaltung der Diät-kost nur noch etwa 1/3 der des Leerversuches beträgt.

Tag-Nacht-Rhythmus

Im Leerversuch ist die durchschnittlich ausgeschiedene Hippursäuremenge im "Abendurin" um etwa 9% größer als im "Morgenurin". Insgesamt wurden mit den Abendportionen 5237,5 mg - mit den Morgenportionen 4814,5 mg Hippursäure ausgeschieden.

Innerhalb der Diät ist es umgekehrt. Hier ist die durchschnittliche, mit dem "Morgenurin" ausgeschiedene Hippursäuremenge um 7% größer als die im "Abendurin". Insgesamt wurde hier mit den Morgenportionen (1437,7 mg) mehr Hippursäure ausgeschieden, als mit den Abendportionen (1283,7 mg).

Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Meßergebnisse ergab folgende Parameter:

Die Hippursäureausscheidung wurde 13 Tage lang bei Einhaltung einer Diät gemessen. Am 8. Tag wurde das Pharmakon genommen. Der Mittelwert der Meßergebnisse - mit Ausnahme des Wertes am Tag der Medikamenteneinnahme - beträgt 168,98 mg, die Standardabweichung 23,94 mg. Der Wert nach Einnahme des Pharmakons beträgt 172,5 mg. Mit Hilfe der t-Prüfung (DOERFFEL 1963: Analysenverfahren und -ergebnisse, Seite 42) wurde der Mittelwert und der Wert nach Medikation verglichen. Ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Werten ist mit 99%-iger Wahrscheinlichkeit auszuschließen. Die Differenz von 3,52 mg ist rein zufälliger Natur.

5. Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Ausscheidung von Hippursäure und Benzoessäure im menschlichen Urin nach Einnahme von Pyramidon^R zu untersuchen.

Dazu wurden zuerst in einem Leerversuch die individuellen Normalwerte der Versuchsperson bestimmt. Im darauffolgenden Diätversuch verringerten sich die ausgeschiedenen Hippursäuremengen bei der Versuchsperson auf etwa 1/3 der Werte bei Normalkost. Auch die Schwankungsbreite der Werte voneinander konnte durch die Diätkost wesentlich eingeschränkt werden. Somit waren die Voraussetzungen für die Einnahme des Medikamentes gegeben.

Nach der Einnahme von Pyramidon^R konnte keine Veränderung bei der Ausscheidung von Hippursäure festgestellt werden. Auch Benzoessäure konnte nach Aufnahme von Pyramidon^R trotz empfindlicher Nachweismethode nicht gefunden werden. Ein von GEORGI 1950 beschriebener 24-stündiger Rhythmus der Hippursäureausscheidung, oder ein Wach-Schlaf-Rhythmus wie ihn PIECHOTKA 1971 beschrieben hat, wobei der "Abendurin" mehr Hippursäure enthielt als der "Morgenurin", konnte in dieser Arbeit ebenfalls nicht bestätigt werden.

Abschließend ist besonders hervorzuheben, daß entgegen den Angaben von G. SCHMIDT 1956 und K. WALZ 1954, in keiner

während des 35 Tage dauernden Versuches gewonnenen, frischen, angesäuerten Urinprobe Benzoesäure gefunden wurde. Die Nachweisgrenze der dazu angewandten Untersuchungsmethode lag bei 1 - 2 μ g.

Literaturverzeichnis

ADAMSON R.H., BRIDGES J.W., WVANS M.E., WILLIAMS R.T.

Species differences in the aromatisation of quinic acid in vivo and the role of gut bacteria.

ALMQUIST H.J.

Principles of amino acid balance Arch. Biochem. 46,
250-251 (1953)

ANONYMUS

Documenta Geigy - Wissenschaftliche Tabellen,
7. Auflage, Pharma, Basel 1968

BERNHARD K., VUILLEUMIER J.P., BRUBACHER G.

Zur Frage der Entstehung der Benzoesäure im Tierkörper

Helv.Chim.Acta. II 1438-1444 (1955)

BODEL Ph.T., COTRAN R., KASS E.H.

Cranberry juice and the antibacterial action of hippuric acid

J. Lab. Clin.Med. 54, 881-888 (1959)

BÖHMER A., JUCKENACK A., TILLMANS J.

Handbuch der Lebensmittelchemie

I, "Allgemeine Bestandteile der Lebensmittel"

Springer, Berlin 1933

BRIDGES J.W., FRENCH M.R., SMITH R.L., WILLIAMS R.T.

The fate of benzoic acid in various species

Biochem. J. 118, 47-51 (1970)

BURGDORF W.

Untersuchungen über die Größe der Diäthoxalsäureaus-
scheidung im Harn und über die Veränderung der Di-
äthoxalsäure und des Adalins bei experimenteller
Harnfäulnis.

Inaugural-Dissertation der Universität Erlangen (1958)

CAMIEN M.N., FOWLER A.V., DUNN M.S.

Determination of apparent hippuric acid and free
glycine in urine by microbiological assay.

Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 102, 104-107 (1959)

COTRAN R., KENDRICK M., KASS E.H.

Role of intestinal bacteria in aromatisation of
guinic acid in man and guinea pig

Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 104, 424-426 (1960)

DEISEL K.

Untersuchung zur Frage der Ausscheidung von
Bromdiaethylacetylcarbamid im Harn
Erlangen, Med.F.Diss. (1955)

DERACHE R., GOURDON J.

Métabolisme d'un conservateur alimentaire l'acide
parahydroxybenz'ique et ses esters

Food-Cosmet.Toxic. 1, 189-195 (1963)

DESPOPOULOS A.

Congruence of excretory function in liver and kidney:
Hippurates

Amer.J.Physiol. 210, 760-764 (1966)

DOERFFEL K.

Beurteilung von Analysenverfahren und -ergebnissen.

S. 42 / 1963

FLASCHENTRÄGER B., LEHNARTZ E.

Physiologische Chemie "Ein Lehr- und Handbuch für
Ärzte, Biologen und Chemiker".

Springer Berlin, Heidelberg 1951

FLASCHENTRÄGER B., LEHNARTZ E.

Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 1a),

Springer Berlin, Göttingen, Heidelberg 1954

FLASCHENTRÄGER B., LEHNARTZ E.

Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 1b),

Springer Berlin, Göttingen, Heidelberg 1954

FLASCHENTRÄGER B., LEHNARTZ E.

Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 2a),

Springer Berlin, Göttingen, Heidelberg 1956

FLASCHENTRÄGER B., LEHNARTZ E.

Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 2b),

Springer Berlin, Göttingen, Heidelberg 1957

FLASCHENTRÄGER B., LEHNARTZ E.

Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 2d),

Springer Berlin, Göttingen, New York 1966

GARFINKEL D., LAJTHA A.

A metabolic inhomogeneity of glycine in vivo

J.Biol.Chem. 238, 2429-2434 (1963)

GEORGI F.

Konstitutionspathologische Probleme bei endogenen
Psychosen

Arch. Psychiat.Nervenkr. 185, 603-618 (1950)

HALLMANN L.

Klinische Chemie und Mikroskopie

Thieme Stuttgart, 10. Auflage (1966)

HÜCKEL W.

Pharmazeutische Chemie und Arzneimittelsynthese

II. Band 11, 298-300

Ferd.Enke Verlag, Stuttgart 1954

IKEDA M., OHTSUJI H.

Hippuric acid, phenol and trichloroacetic acid levels
in urine of Japanese subjects with no known exposure
to organic solvents

Brit.J.Industr.Med. 26, 162-164 (1969)

JOHANNSEN W.J., FRIEDMANN S.H., FELDMANN E.I., NEGRETE A.

A re-examination of the hippuric acid-anxiety
relationship

Psychosom.Med. 24, 569-578 (1962)

LA DOU J., ELLMAN G.L. CALLAWAY E., EDMISTER I.F.,

CHRISTENSEN R.L.

Correlates of manifest anxiety

J.Psychosom.Res. 6, 41-47 (1962)

LANG K.

Verträglichkeit der Benzoessäure

Ztschr.Lebensmittelunters.Forsch. 112, 394-403 (1960)

LOWE G., WILLIAMS A.

Papain catalysed hydrolysis of some hippuric esters

Biochem.J. 96, 199-204 (1965)

MÖLLER K.O.

Pharmakologie

4. Auflage, Benno Schwabe & Co., Basel, Stuttgart 1961

PAGNOTTO L.D., LIEBERMAN L.M.

Urinary hippuric acid excretion as an index of

toluene exposure

Amer.Industr.Hyg.Ass.J. 28, 129-134 (1967)

RAUEN H.M.

Biochemisches Taschenbuch

Springer Münster 1956

RÖMPP H.

Chemie Lexikon

6. Auflage, Frankh'sche Verlagsbuchhandlung

Stuttgart 1966

SCHACHTER D.

The chemical estimation of acyl glucuronides and

its application to studies on the metabolism of

benzoate and salicylate in man

J.Clin.Invest. 36, 297-302 (1957)

SCHANKER L.A., TOCCO D.J., BRODIE B.B., HOGBEN C.A.M.

Absorption of drugs from the rat small intestine

J.Pharmacol.Exp.Ther. 123, 81-88 (1958)

SCHMIDT G.

Vorkommen und Ausscheidung von Äthyloxybuttersäure
nach Adalinaufnahme.

Arch.exper.Path.u.Pharmakol. 229, (1956)

STROHMEYER G., KLINGMÜLLER V.

Über Kupplungsprodukte aus Glutaminsäure, Glutamin,
Asparagin und aromatische Carbonsäuren

Clin.Chim.Acta 9, 285-291 (1964)

STRUWE F.E.

Untersuchungen an Schizophrenen mit der kombinierten
Hippursäureprobe und mit Serumlabilitätsreaktionen
Schriftenreihe LKH, Schleswig-Stadtfeld, 2, 1-79
(1953)

TEUCHY H., VAN SUMERE C.F.

Quantitative thin-layer chromatographic determination
of hippuric acid in rat urine.

Clin-Chim.Acta. 25, 79-86 (1969)

VAN SUMERE C.F., TEUCHY H., PE H., VERBEKE R., BEKAERT J.

Quantitative investigation on the hippuric acidforma-
tion in healthy and diseased individuals.

Clin.Chim.Acta. 26, 85-88 (1969)

VOGEL G., STOECKERT J., TERVOOREN U.

Hemmung renal tubulärer Substanztransporte durch
Diuretica.

Naunyn Schmiedeberg Arch.Pharm.Exp.Path. 255,
245-253 (1966)

VOLLGRAFF G.

Entgiftungs- und Ausscheidungskapazität verschiede-
ner Formen der multiplen Sklerose im kombinierten
Hippursäuretest

Psychiat.Neurol. 154, 50-60 (1967)

WALZ K.E.

Beitrag zur Frage der Ausscheidung und des Nachweises
von Adalin im Harn.

Erlangen Med.F.Diss. (1954)

WEBB R.E., SHAH E., STOKSTAD E.L.R.

Effect of folic acid and vitamin B₁₂ on excretion
of hippuric acid and formiminoglutaminic acid.

Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 121, 19-24 (1966)

WEISS G.

Diagnostische Bewertung von Laborbefunden.

J.F. Lehmann, München 1970

WILLIAMS R.T.

Detoxication Mechanisms

2. Auflage, Chapman & Hall, LTD. London 1959

ZIENER H.

Untersuchungen zur Frage der Ausscheidung von Hippur-
säure und Benzoessäure im menschlichen Harn.

Erlangen Med.F.Diss. (1972)

Meinen besten Dank darf ich Herrn Professor Dr. med. Dr. phil. E. Weinig, Vorstand des Institutes für Gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen - Nürnberg, für die Arbeitsmöglichkeit an seinem Institut und für die Übernahme des Coreferates aussprechen.

Ein besonderes Bedürfnis ist es mir, Frau Professor Dr. med. Dr. phil. nat. M. Geldmacher - v. Mallinckrodt, für die Überlassung des Themas und die stets hilfreiche Beratung in Fragen zu dieser Arbeit Dank zu sagen.

Lebenslauf

Am 24. Mai 1947 wurde ich, Max Scharrer, in Gunzenhausen/Mfr. als drittes Kind des Kaufmanns und Betriebsleiters der dortigen Bayerischen Warenvermittlung Karl Scharrer und seiner Ehefrau Thekla, geb. Waldmann, geboren.

Am gleichen Ort besuchte ich fünf Jahre lang die Volksschule und anschließend das mathematisch - naturwissenschaftliche Gymnasium. Das Abitur legte ich im Juli 1967 in Gunzenhausen/Mfr. ab.

Im Sommer-Semester 1968 begann ich an der Friedrich - Alexander-Universität Erlangen - Nürnberg mit dem Studium der Zahnmedizin. Das Vorphysikum bestand ich im März 1969, das Physikum im September 1970, und im Juni 1973 schloß ich mein Studium mit dem Staatsexamen ab.

